

This paper not to be cited without prior reference to the author.

INTERCALIBRATIE TUSSEN TWEE AUTOMATISCHE TECHNIEKEN DIE
GEBRUIKT KUNNEN WORDEN VOOR NUMERIEKE BEPALINGEN VAN
PHYTOPLANKTONCELLEN

O. CROMBOOM^{2*} en J.P. KOMMARETS

LABORATORIUM VOOR ECOLOGIE EN SYSTEMATIEK

VRIJE UNIVERSITEIT BRUSSEL

A. BUYLLAAN 105

1050 BRUSSEL (BELGIUM)

^{2*}

Technisch medewerker bij het F.K.F.O.

Intercalibratie tussen twee automatische technieken die gebruikt kunnen worden voor numerieke bepalingen van phytoplanktoncellen.

1. Inleiding.

Een recente ontwikkeling van de meettechnieken ter bepaling van het aantal individuele cellen in een phytoplanktonpopulatie leidde enerzijds tot de toepassing van een elektronisch meetinstrument - de Coulter Counter - en anderzijds tot het gebruik van een autoradiografische werkmethode.

Dat de Coulter Counter een geschikt apparaat is voor de bepaling van het aantal en de grootte van algencellen werd aangetoond door MALONEY et al. (1962) en het nut ervan bij metingen van eencellige marine organismen werd vastgesteld door HASTINGS et al. (1962).

Dat ook autoradiografie een toepasselijke techniek is bij het kwantitatief (en semi-kwalitatief) onderzoek van actieve cellen werd duidelijk aangetoond door een van ons ("Autoradiography as a tool in primary production research").

Het doel van dit experiment is een intercalibratie te maken tussen beide technieken.

2. Materialen en werkmethoden.

a) Gebruikte kultuur:

In het experiment werd slechts één soort kultuur gebruikt: *Platymonas tetraethale*, in een concentratie van ongeveer 20.000 cellen per ml.

200 ml van deze kultuur werden gedurende 2 u 45 min. geïnku-beerd met $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ (aktiviteit 4mCi) bij een konstante temperatuur van 18 °C en onder continue belichting (\pm 15.000 lux).

Na inkubatie werden de cellen gefixeerd met lugol oplossing.

b) Coulter Counter:

Wat de beschrijving en het meetprincipe van het toestel betreft verwijzen wij naar: "A Practical Manual on the Use of the Coulter Counter in Marine Science", by R. W. SHILLON and T.R. PARSONS (1967).

3. Meetprocedure.

Van de goïnkubeerde kultuur werden volgende verdunningen gemaakt: 1/1000; 1/500; 1/250; 1/100; 1/50; 1/25; 1/10; 1/5; 1/2.

Als dilutiemedium werd op 0,45 μ gefiltreerd zeewater gebruikt.

De verschillende samples werden alle onder optimale instellingsnormen

in een meetvolume van 0,5 ml geteld met een meetbuis van 100 μ .

De resultaten zijn een gemiddelde van 10 metingen. (tabel I)

Tabel I.

<u>Verdunning</u>	<u>Coulter Counter (/a.5ml)</u>	<u>Autoradiografie (/a.5ml)</u>
1	9875	—
1/2	4721	5568
1/5	1859	1045
1/10	1029	600
1/25	463	263
1/50	274	—
1/100	145	—
1/250	115	70
1/500	121	(0)
1/1000	103	(0)

Deze tabel toont duidelijk de verdunningslimieten voor beide technieken in de beschouwde concentratie van ongeveer 20.000 cellen per μ l.

a) De metingen met de Coulter Counter leiden tot een vaste waarde van de back-ground die vanaf een dilutie 1/250 een belangrijke verandering aanneemt.

De berekening van deze back-ground steunt op het oplossen van het volgende stelsel:

$$Y_a = K + x/a.$$

$$Y_b = K + x/b.$$

Hierin zijn: K: de te berekenen back-ground.

a en b: dilutiefactoren.

x: aantal (onbehandeld) partikels in het niet verdunde monster.

Y_a en Y_b : experimentele resultaten overeenkomstig met de dilutiefactoren a en b.

De gemiddelde waarde van Y_a en Y_b laat ons toe een gemiddelde x-waarde te bepalen: $x_{gem} = 4357$.

b) De laagste aannemelijke verdunningswaarde voor autoradiografie is ongeveer $1/250$. Door extrapolatie van de verschillende resultaten tov. de niet verdunde hoeveelheid en de berekening van een gemiddelde kunnen wij besluiten tot een concentratie van ongeveer 6000 actieve cellen per 0,5 ml (c).

Aldus kunnen wij de verhouding van partikels en inactieve cellen (k) in het onverdunde monster bepalen: $x = k + c$.

$$\text{of } 9337 = k + 6000.$$

$$\text{waaruit } k = 3337.$$

Op deze wijze worden de tellingen met de Coulter Counter ontbonden waardoor een correlatie tussen de twee technieken mogelijk werd. (tabel II; cijfers in de laatste twee kolommen).

Tabel II.

Dilutie	Experimenteel Resultaat	Y berekend met $K=69$; $k=3337$; $c=6000$	c/verd.	Autoradiografie.
1	9375	9406	6000	-
1/2	4721	4737	3000	5568
1/5	1859	1936	1200	1045
1/10	1029	1062	600	600
1/25	463	442	240	263
1/50	274	255	120	-
1/100	145	162	60	-
1/250	115	106	24	70